



ANNALES

**CONFÉRENCE INTERNATIONALE
SUR LES RAVAGEURS
EN AGRICULTURE**

**INTERNATIONAL CONFERENCE
ON PESTS IN AGRICULTURE**

TOME III

7-8-9 décembre 1993

le Corum - Montpellier

ANPP - 3^e CONFERENCE INTERNATIONALE
SUR LES RAVAGEURS EN AGRICULTURE
MONTPELLIER 7-8-9 Décembre 1993

LES PENTATOMIDES VECTEURS DES TRYPANOSOMES ASSOCIES
AU HARTROT DU COCOTIER ET MARCHITEZ DU PALMIER

M. DOLLET, F. ALVANIL⁽¹⁾, A. DIAZ⁽²⁾, C. LOUVET⁽³⁾,
D. GARGANI, C. SEGUR, E. MULLER, J.F. JULIA⁽⁴⁾,
H. CALVACHE⁽¹⁾, J.L. RENARD⁽⁵⁾, J.M. MALDES⁽⁶⁾,

Laboratoire Phytovirologie des Régions Chaudes CIRAD-ORSTOM
(LPRC) BP 5035 - 34032 Montpellier Cedex 1 - France

(1) CENIPALMA - AP 13772 - Bogota - Colombie

(2) FONAIAP - Estacion Experimental Maturin - Edo Monagas -Venezuela

(3) SOCOCO - CEP 66040 - Belem - Para - Brésil

(4) CIRAD-CP - BP 701 - 97387 Kourou Cedex - Guyane Française

(5) CIRAD-CP - BP 5035 - 34032 Montpellier - France

(6) Laboratoire de Faunistique CIRAD-CA - 34032 Montpellier - France

RESUME : Plusieurs espèces de *Lincus* - Pentatomidae - sont vectrices de trypanosomatides intraphloémiques associés à des dépérissements qui frappent le cocotier (Hartrot) et le palmier à huile (Marchitez) en Amérique du Sud. Il a pu être démontré le rôle de vecteur de *L. lamelliger* sur cocotier et *L. tumidifrons* à la fois sur palmier et cocotier. Un seul autre genre de Pentatomide, *Ochlerus* sp, a été identifié comme vecteur dans une cocoteraie du Brésil. La mise au point de techniques d'élevage d'*Ochlerus* sp, de *L. croupius* et *L. tumidifrons* a permis d'étudier le cycle de ces insectes.

Mots-clés : Trypanosomes, *Phytomonas*, *Lincus* spp, *Ochlerus* sp, Palmiers

SUMMARY : Several species of *Lincus* - Pentatomidae - are vectors of phloem-restricted trypanosomatids associated with wilts affecting coconut (Hartrot) and oil palm (Marchitez) in South America. It has been demonstrated that *L. lamelliger* is a vector on coconut and *L. tumidifrons* a vector on coconut and oil palm. Only one other genus of the Pentatomidae, *Ochlerus* sp, has been found to be a vector in a coconut plantation in Brazil. The development of rearing techniques of *Ochlerus* sp, *L. croupius* and *L. tumidifrons* has enabled the study of their cycle.

Key words : Trypanosomes, *Phytomonas*, *Lincus* spp, *Ochlerus* sp, Palms

INTRODUCTION

Le développement du palmier à huile africain - *Elaeis guineensis* - en Amérique du Sud est récent. La "Marchitez sorpresiva", maladie léthale, a suivi de près les premières plantations industrielles de palmier au Pérou et en Equateur. La Marchitez était considérée dans les années 70 comme un facteur limitant du développement de cet oléagineux. Les recherches étiologiques ont révélé l'association spécifique de trypanosomes intraphloémiques à ce dépérissement. (DOLLET et al. 1977, DOLLET et LOPEZ, 1978). Des trypanosomes similaires ont également été mis en évidence dans le syndrome pathologique du Hartrot du cocotier en Amérique du Sud (PARTHASARATHY et al., 1976). Le seul autre cas de maladie à trypanosomes chez les plantes datait des années 30 avec les travaux de STAHEL sur la nécrose du phloème du caféier au Surinam (STAHEL, 1931). Mais STAHEL n'avait pu ni démontrer la pathogénicité des trypanosomes, ni identifier le vecteur. D'une manière générale, on ne savait que peu de choses sur les trypanosomes de plantes -appelés arbitrairement "*Phytomonas*"- bien que le premier rapport sur leur présence chez les plantes date de 1909 (LAFONT, 1909). C'est l'aspect "possible réservoir" de la maladie du sommeil ou autre maladie humaine ou animale qui prédominait dans ces recherches. Très tôt, les vecteurs de trypanosomes des plantes à latex ont été identifiés parmi deux familles d'Hétéroptères -"*Lygaeidae* et *Coreidae*" (DOLLET, 1984). Les recherches menées sur la transmission des trypanosomes intraphloémiques associés aux dépérissements des oléagineux pérennes ont conduit à la découverte d'une autre famille vectrice : Pentatomidae (LOUISE et al., 1986). Dans le cadre de nos recherches étiologiques (prouver la pathogénicité des trypanosomes selon les Postulats de KOCH) et épidémiologiques, nous nous sommes consacrés ces six dernières années à l'étude des vecteurs du Hartrot et de la Marchitez.

MATERIEL ET METHODES

. Recherche des vecteurs

Les recherches de vecteurs de Hartrot ou de Marchitez ont été menées en Guyane sur la zone côtière entre Cayenne et St Laurent, au Vénézuéla -Etats de Sucre, Monagas, et Zulia, en Colombie (Méta et Santander). Les arbres atteints de Marchitez ou Hartrot sont abattus. Les feuilles sont ensuite excisées, en partant des feuilles basses jusqu'aux plus jeunes, en prenant soin de les couper au ras du stipe, les insectes se trouvant généralement à la base des rachis entre la face interne du rachis et le pétiole du régime ou de l'inflorescence.

. Transmission

Les essais de transmission avec des insectes récoltés sur arbres malades, sont réalisés en petites cages en plexiglas aérées par des trous recouverts de moustiquaire très fine, maintenues dans des chambres climatiques à 26-28°C. Chaque cage ne contient qu'un seul cocotier de 12 à 16 mois.

. Elevage

Plusieurs tentatives d'élevage ont été réalisées faisant varier divers paramètres: sources d'alimentation (plantes vivantes, fruits, morceaux de feuilles ou rachis de cocotier), température (entre 25 et 30°C), la lumière (lumière artificielle tubes néon, lumière tamisée, obscurité) et la taille des cages [de la petite boîte cylindrique 8 cm de hauteur x 8 cm de diamètre, à des cages en plexiglas (60x50x80 de hauteur) contenant un cocotier ou plusieurs petits palmiers].

RESULTATS

I - Espèces vectrices de trypanosomes intraphloémiques

. *Lincus croupius* (LOUISE *et al.*, 1986) et *L. lethifer* (PERTHUIS *et al.*, 1985) ont été les deux premières espèces de Pentatomides vectrices mises en évidence. Au Brésil, *L. lobuliger* peut transmettre des *Phytomonas* à la fois sur cocotier et palmier (De RESENDE *et al.*, 1986).

. Au cours des diverses prospections réalisées, nous avons identifié de nouvelles espèces de *Lincus* associées à des foyers de Hartrot ou de Marchitez, pour lesquelles nous avons pu prouver leur rôle de vecteur par essais de transmission en cages :

. *L. lamelliger* trouvée sur cocotier atteint de Hartrot en Guyane.

. *L. tumidifrons* trouvée sur cocotier et sur palmier atteints de Hartrot ou de Marchitez dans l'Etat de Zulia au Vénézuëla, ainsi que sur palmiers à huile de dix huit ans atteints de Marchitez dans l'Etat de Méta et Magdalena en Colombie. Les essais de transmission croisée -*L. tumidifrons* trouvées sur palmier mis en cage sur cocotier- ont montré que cette espèce pouvait transmettre des trypanosomatides phytopathogènes aussi bien sur palmier que sur cocotier. Il en est de même pour *L. lethifer* (Tableau I).

. D'autres espèces de *Lincus* sont suspectées vectrices : *L. spurcus* au Pérou (AREVALO, com. pers.), *L. vandoesburgi* au Surinam (ASGARALI, com. pers.), *L. dentiger* et *L. apollo* en Guyane (MORIN, com. pers.).

. *Ochlerus* sp constitue à ce jour le deuxième genre, vecteur des *Phytomonas* intraphloémiques. Des essais réalisés au Brésil dans une plantation de l'Etat du Para, en grandes cages, ont permis d'obtenir la reproduction du Hartrot avec un faible pourcentage d'efficacité (deux cas sur huit cocotiers mis dans la même

grande cage). Les divers essais réalisés à Montpellier en petites cages individuelles sont tous restés négatifs alors qu'avec deux *L. lamelliger*, nous avons pu obtenir une transmission du Hartrot (Tableau I). Cependant, ces résultats ne présument ni de l'efficacité de la transmission, ni du pourcentage d'insectes infectieux de ces deux genres, dans la nature ; certains essais réalisés en cage à Montpellier avec *L. croupius* sont restés négatifs.

. Divers autres Pentatomides ont été identifiés dans des cocoteraies ou palmeraies affectées par ces dépérissements à trypanosomes. Ces punaises étaient localisées soit sur l'arbre lui-même, soit au pied de l'arbre, sur le sol sous le couvert végétal : *Proxys victor* (Vénézuéla, Guyane), *Alcaeorrhynchus grandis* (Vénézuéla), *Macropygium reticulare* (partout en Amérique du Sud), *Berecynthus delirator* (Vénézuéla), *Antiteuchus* cf *piceus* (Guyane), *Alitocoris parvus* (Colombie). Les essais de transmission réalisés avec *Proxys*, *Macropygium* ou *Berecynthus* sont restés négatifs.

II - Elevage de pentatomides vectrices

II.1 *Ochlerus* sp

. *Ochlerus* sp est un insecte que l'on peut trouver après le coucher du soleil et jusqu'à 9-10 heures le matin sur la face inférieure des feuilles basses de cocotiers, dans la cocoteraie où ils ont été reconnus vecteurs (Moju, Etat du Para, Brésil).

. *Ochlerus* sp a pu être élevé, à 25-26°C en lumière tamisée, en petites boîtes en plastique contenant une couche de 3 cm de terreau dans lequel sont semés des haricots verts, et sur lequel sont déposés des morceaux de rachis de jeunes feuilles de cocotier. Des gousses de haricot vert contenant des graines mûres sont également ajoutées. Les insectes semblent se nourrir aussi bien dans les tiges de haricot vert que dans les graines ou dans les rachis de cocotier.

. Dans ces conditions, chaque ponte comprend 10 à 12 oeufs alignés en quinconce sur deux rangées accolées. Les passages entre les cinq différents stades durent en moyenne : 5,2 jours pour l'éclosion, 6,8 pour le stade 1, 4,4 pour le stade 2, 15 pour le stade 3, 30,5 pour le stade 4 et 46 pour le stade 5. Il faut donc plus de 100 jours pour obtenir un adulte. Mais dans ces conditions d'élevage, il est possible de maintenir vivants pendant six mois, des adultes récoltés en cocoteraie.

Tableau I

Essais de transmission sur cocotier, des *Phytomonas* associés au Hartrot et à la Marchitez, par différentes espèces de Pentatomides, en cages.

(Trials of transmission on coconut, of *Phytomonas* associated with Hartrot or Marchitez, through different species of Pentatomids, in cages)

Espèce	Plante hôte ⁽¹⁾	Origine	Nombre d'insectes	Résultats ⁽²⁾	Temps d'incubation ⁽³⁾
<i>Lincus lamelliger</i>	Cocotier	Km16.(N1) - Guyane	2 adultes	+	3 mois
<i>L. lamelliger</i>	Cocotier	Combi-Guyane	3 adultes	-	-
<i>L. lethifer</i>	Palmier	Shushufundi-Equateur	10 adultes et 35 larves	+	2,5 mois
<i>L. tumidifrons</i>	Palmier	Llanos-Colombie	1 adulte et 2 larves	-	-
<i>L. tumidifrons</i>	Palmier	Llanos -Colombie	40 adultes et larves	+	2 mois
<i>Bercynthus delirator</i>	Cocotier ⁽⁴⁾	Irapa (Sucre)-Vénézuëla	12 adultes	-	-
<i>Macropygium reticulare</i>	Cocotier ⁽⁴⁾	Irapa (Sucre)-Vénézuëla	12 adultes	-	-
<i>M. reticulare</i>	Cocotier	Combi-Guyane	16 adultes et 1 larve	-	-
<i>Ochlerus</i> sp	Cocotier	Para-Brésil	14 larves et adultes	-	-
<i>Ochlerus</i> sp	Cocotier	Para-Brésil	21 larves et adultes	-	-
<i>Ochlerus</i> sp	Cocotier	Para-Brésil	12 larves et adultes	-	-
<i>Ochlerus</i> sp	Cocotier	Para-Brésil	5 adultes	-	-
<i>Ochlerus</i> sp	Cocotier	Para-Brésil	6 adultes	-	-

(1) Plante malade (Marchitez ou Hartrot) sur laquelle les insectes ont été récoltés

(2)+ = Observation de symptômes de dépérissements, accompagnés de la présence de trypanosomes dans les tissus

(3) Période écoulée entre le lâcher d'insectes dans la cage et les premiers symptômes

(4) Insectes trouvés sur le sol au pied des cocotiers sous le couvert végétal

II.2. *Lincus tumidifrons*, *Lincus croupius*

Il a été impossible d'obtenir un élevage de *Lincus* dans les mêmes conditions que celles utilisées pour *Ochlerus*. Les élevages s'éteignent progressivement en moins de deux mois.

Les différents paramètres testés ont montré que l'élevage devait se réaliser à l'obscurité totale, à une température inférieure à 28°C (optimum à 25-26°C) et à humidité élevée. Différents régimes alimentaires ont été testés :

- matériel végétal : fruits de palmier, canne à sucre, épis de maïs, betterave, blé, fruits de *Renealmia* aff. *alpina* (Zingiberacée).
- matériel "semi-synthétique" : farines à base de maïs, farine de fruits secs de *Renealmia*.
- solutions de sucres additionnées ou non de vitamines et ou d'extraits de levure.

Le cycle complet de *Lincus tumidifrons* a été obtenu en boîte en plastique contenant du papier absorbant saturé en eau, des rafles de maïs et des fruits de *Renealmia*. Dans ces conditions, les femelles pondent en moyenne six à huit oeufs alignés sur une seule rangée. L'incubation des oeufs dure en moyenne 7, 8 jours, le premier stade 7,3, le deuxième 22,5, le troisième 33, le quatrième 35,7, et le cinquième, 71,6 jours. Il faut environ 170 jours pour obtenir un adulte à partir de la ponte. Seulement 4,6 % des oeufs permettent d'obtenir un adulte.

. Les conditions d'élevage ont été améliorées en nourrissant les punaises exclusivement de graines de maïs germées, toujours à l'obscurité, à 25°C et à plus de 90 % d'humidité. Nous maintenons ainsi, depuis 17 mois, des élevages de *Lincus croupius* de Guyane arrivés actuellement à la quatrième génération. Dans ces conditions, un adulte peut être maintenu vivant plus de six mois. Il faut environ 90 jours pour obtenir un adulte à partir d'une ponte.

DISCUSSION - CONCLUSION

Il y a dix ans, on ne savait rien sur les pentatomides du genre *Ochlerus* ou *Lincus*. Les connaissances sur ces insectes se limitaient à une description dotée d'un nom d'espèce, du pays où l'insecte avait été mis en évidence (Amérique du Sud ou Centrale) et très rarement la plante hôte (orchidée).

La démonstration de leur rôle dans la transmission des dépérissements à trypanosomes comme le Hartrot et la Marchitez constitue une avancée importante dans l'étiologie et l'épidémiologie de ces maladies. Il reste maintenant à identifier les plantes hôtes indigènes de ces vecteurs. En effet, ces

dépérissements ne sont connus qu'en Amérique du Sud. Les réservoirs sont donc probablement des plantes indigènes. COUTURIER et KAHN (1992) ont inventorié sur des palmiers indigènes au Pérou -*Astrocaryum* sp- différentes espèces de *Lincus*, dont une, *L. spurcus*, a déjà été trouvée en plantation de palmier à huile ; mais, son éventuel rôle de vection n'a pas été prouvé. Par ailleurs, on ne sait pas si ces palmiers indigènes hébergent ou pas des Trypanosomes. Malheureusement, les recherches de *Lincus* sur palmiers indigènes -dont plusieurs espèces d'*Astrocaryum*- en Guyane autour d'une cocoteraie affectée par le Hartrot, sont restées vaines (LLOSA, LEVASSEUR, com. pers.). Les recherches sur les palmiers américains, à la fois au niveau des punaises et au niveau des trypanosomes devront être poursuivies.

L'élevage des vecteurs maîtrisé, les trypanosomes associés au Hartrot étant maintenant cultivés *in vitro* (MENARA et al, 1988), nous possédons tous les éléments pour essayer de vérifier la pathogénicité de *Phytomonas* selon les Postulats de KOCH, en faisant acquérir les trypanosomes par les *Lincus* ou *Ochlerus* et en leur faisant transmettre les organismes. Ceci n'était pas réalisable jusqu'alors car il est impossible d'introduire mécaniquement un microorganisme dans les tubes criblés du phloème.

Enfin, la connaissance de ces vecteurs et la disposition d'élevages nous permettront d'entreprendre diverses études -phéromones, entomopathogènes, etc...- en vue d'une lutte intégrée contre ces maladies.

REMERCIEMENTS

Nous remercions D. MARIAU (CIRAD-CP) pour nous avoir rapporté des *L. lethifer* du Pérou, et J.L. RENARD (CIRAD-CP) pour les *Ochlerus* sp du Brésil.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

COUTURIER G., KAHN F., 1992 - Notes on the insect fauna of two species of *Astrocaryum* (*palmae*, *coccae*, *bactridinae*) in peruvian amazonia, with emphasis on potential pests of cultivated palm. Bull. Inst. Fr. Etudes Andines, 21 (2), 715-725.

DOLLET M., GIANNOTTI J., OLLAGNIER M. 1977 - Observation de protozoaires flagellés dans les tubes criblés de palmiers à huile malades - C.R. Acad. Sci. Paris, Série D, 284 , 643-645.

DOLLET M., LOPEZ G. 1978 - Etude sur l'association de protozoaires flagellés à la Marchitez sorpresiva du palmier à huile en Amérique du Sud - Oléagineux, 33 (5), 209-213.

DOLLET M. 1984 - Plant diseases caused by flagellate protozoa (*Phytomonas*) - Annual Review of Phytopathology, 22, 115-132.

LAFONT A., 1909 - Sur la présence d'un parasite de la classe des flagellés dans le latex de l'*Euphorbia pilulifera*. C.R. Soc. Biol., 66, 1011-13.

LOUISE C., DOLLET M., MARIAU D., 1986 - Recherches sur le Hartrot du cocotier, maladie à *Phytomonas* (Trypanosomatidae) et sur son vecteur *Lincus* sp. (Pentatomidae) en Guyane - Oléagineux, 41 (10), 437-449.

MENARA A., DOLLET M., GARGANI D., LOUISE C., 1988 - Culture in vitro sur cellules d'invertébrés des *Phytomonas* sp. (Trypanosomatidae) associés au Hartrot, maladie du cocotier - C.R. Acad. Sci. Paris, Série III, 307, 597-602.

PARTHASARATHY M.V., VAN SLOBBE W.G., SOUDANT C., 1976. Trypanosomatid flagellate in the phloem of diseased coconut palm. Science 192, 1346-48.

PERTHUIS B., DESMIER de CHENON R., MERLAND E., 1985 - Mise en évidence du vecteur de la Marchitez sorpresiva du palmier à huile, la punaise *Lincus lethifer* Dolling (*Hemiptera Pentatomidae Discocephalinae*). Oléagineux, 40 (10), 473-475.

De RESENDE M.L.V., BORGES R.E.L., BEZERRA J.L., OLIVEIRA D.P., 1986 - Transmissao da murcha de *Phytomonas* a coqueiros e dendezeiros por *Lincus lobuliger* Breddin, 1908 (*Hemiptera*, Pentatomidae) : resultados preliminares. Rev. Theob. 16, 149-154.

STAHEL G., 1931 - Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloemnekrose) des Kaffeebaumes in Surinam. I. Phytopath. Z., 4, 65-82.